ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI TORINO
diretto dal Prof. L. PAGLIANI

INTORNO ALLE IMMUNIZZAZIONI ATTIVE E PASSIVE PER LE VIE DIGERENTI DEI NEONATI E DEI LATTANTI

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL DOTTOR
E. BERTARELLI
Assistente

Estratto dalla **Rivista d'Igiene e Sanità pubblica**
Anno XVI — 1905.

TORINO
STABILIMENTO FRATELLI POZZO
1905.

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI TORINO
diretto dal Prof. Luigi Pagliani

INTORNO ALLE IMMUNIZZAZIONI ATTIVE E PASSIVE PER LE VIE DIGERENTI
dei neonati e dei lattanti (1)

Ricerche sperimentali del Dott. E. Bertarelli, *Assistente*

Le comunicazioni di v. Behring intorno alla idea che egli si fa della genesi della tubercolosi, ed intorno ad una possibile immunizzazione dei bambini, per mezzo di latte proveniente da animali attivamente immunizzati contro la tubercolosi, hanno richiamato l'attenzione su molti problemi che a queste osservazioni si collegano.

È oramai universalmente noto su che cosa si basa il metodo di immunizzazione preconizzato da v. Behring. Scartata la possibilità pratica di una immunizzazione diretta nei bambini per via sottocutanea, Behring ha proposto come mezzo di immunizzazione, l'allattamento con latte di mucche iperimmunizzate verso la tubercolosi. Secondo v. Behring le particolari condizioni di struttura e di funzionalità dello stomaco e dell'intestino dei neonati, fanno sì che l'assorbimento delle sostanze immunizzanti si debba fare bene, mentre negli adulti, in genere, la somministrazione gastrica di sieri contenenti anticorpi, non può dare un utile risultato, per le alterazioni che gli anticorpi subiscono per opera della digestione. Ragioni biologiche e morfologiche inducono Behring a ritenere, che nei primi periodi della vita, l'assorbimento dei materiali proteici si faccia in modo eccezionalmente facile; cosicchè anche le sostanze immunizzanti portate

(1) Ho adoperato, un po' impropriamente, ma per rendermi comprensibile con poche parole, il termine *neonati* per indicare gli animali nei primi giorni di vita, e *lattanti*, i mammiferi dalla seconda settimana di vita sino alla fine dell'allattamento.

nel tubo gastro-enterico, potrebbero in questo periodo della vita venir assorbite senza modificazioni gravi, ed utilizzate nella difesa dell'organismo.

Le prove omai acquisite a proposito dell'assorbimento per la via dell'apparato digerente, della antitossina tetanica e difterica, l'analogia del fatto stesso per cui i mammiferi nei primissimi periodi della loro vita possono infettarsi di carbonchio, introducendo il germe nel canale gastro-enterico, mentre negli animali adulti l'introduzione del bacillo carbonchioso per questa via rimane senza risultato, sono ragioni per appoggiare entro certi limiti le vedute di Behring, in questa parte almeno delle sue affermazioni.

Certamente dal punto di vista biologico, una qualche ragione per pensare che le sostanze immunizzanti, legate indubbiamente alle frazioni proteiche dei liquidi nei quali le sostanze immunizzanti stesse sono disciolte o sospese, possano venir assorbite dai lattanti (almeno nei primi periodi di vita), esiste. Senza entrar in discussioni biologiche, il fatto noto di una scarsissima elaborazione di pepsina e di acidità (Meyer) (1) da parte dello stomaco dei lattanti, e la disposizione speciale di tutto l'epitelio nella mucosa gastro-enterica (2), rendono probabile il fatto.

Se dei dati mancano, questi riguardano sovratutto la prova sperimentale diretta, che la immunità antibatterica ottenuta per somministrazioni orali, sia più elevata nei neonati e nei lattanti. Nè meno scarse sono le nozioni che noi possediamo in proposito sui periodi di vita, e sui limiti, entro i quali questa più facile immunizzazione, per ora semplicemente presupposta, si fa nella scala dei mammiferi.

*
* *

Le mie ricerche sono appunto dirette a portare un contributo alla risoluzione di questi problemi, fondamentali per l'immunizzazione dei neonati, per via orale.

---

(1) A, Meyer, *Arch. f. Kinderheilk.*, vol. 35.

(2) Vedi in proposito la pubblicazione complessiva di v. Behring: *Tubercoloseenstehung, Tubercolosebekämpfung und Säuglingsernährung*, Berlino, 1904. Per gli altri scritti di Behring in proposito, vedi v. Behring, *Berlin. klin. Woch.*, 1903; *Deut. med. Woch.*, 1903-1904.

Posta nella forma più semplice la quistione si riduce a questi termini: l'immunizzazione attiva e passiva per via gastrica nel neonato e nel lattante, dà realmente risultati migliori che nell'adulto? È lecito quindi sotto il rapporto biologico, fondare delle speranze su un tal metodo di immunizzazione? Quistioni attorno alle quali se ne aggirano altre non meno interessanti, quali quella di conoscere sino a qual limite di età, il lattante assorbe senza alterarli, gli anticorpi, e li utilizza nella difesa dell'organismo.

Le ricerche che seguono, sebbene fatte su un numero ragguardevole di animali, non possono essere senz'altro risolutive; esse mi pare, però, portino della luce nella quistione. Le difficoltà gravi di avere sottomano animali adatti (neonati, lattanti, femmine gravide) in copia, fu risolta mercè l'aiuto prezioso del dott. Rodolfo, ufficiale sanitario di Carignano, che non solo si sobbarcò durante molti mesi all'improbo lavoro di ricercarmi gli animali opportuni, ma volle portare un contributo non lieve al lavoro, assumendosi le spese dell'acquisto di quasi tutti gli animali. Del che mi è caro ringraziarlo pubblicamente.

Le immunizzazioni attive dei lattanti e dei neonati per la via gastrica.

Noi possediamo pochi dati sulle immunizzazioni attive in genere (contro i batteri e contro altri elementi), e pochissime su quelle ottenute sui lattanti, introducendo i materiali immunizzanti per la via gastrica. Circa le immunizzazioni antitossiche attive, per via gastrica, è a mia conoscenza il solo lavoro di G. Carrière (1) il quale afferma che somministrando della tossina tetanica o del veleno dei serpenti per via gastrica, non si riesce ad immunizzare gli animali.

Per quanto riguarda l'immunizzazione contro elementi dell'organismo, le ricerche sono meno scarse e a tutti sono note le prove di Metalnikoff, ripetute successivamente da varii autori, per l'ottenimento di ambocettori emolitici, somministrando globuli rossi per via gastrica.

---

(1) Carrière, *Annales Pasteur*, 1899.

Per gli ambocettori batteriolitici non mi consta vi sieno prove; prove che si trovano invece meno infrequenti per quanto riguarda il problema generale di ottenere sostanze agglutinanti, mediante somministrazione orale di germi, in animali adulti.

Così Wakulenko (1) somministrando cogli alimenti ai conigli delle emulsioni uccise di colture di tifo e di colèra, osservò che il potere agglutinante era salito, già dopo 14 giorni dall'iniziata alimentazione, a 1 : 500 pel tifo e a 1 : 60, 1 : 120 pel colèra. Valori molto alti e spiegabili solo colle dosi enormi di materiale somministrato.

Qualche altra prova in tale direzione era già stata fatta anche da Schwarz (2), il quale alimentando degli animali con batteri e con globuli rossi stranieri, aveva osservato la comparsa nel sangue di ambocettori emolitici, di agglutinine e di sostanze battericide. Ed a questo gruppo di ricerche si collegano anche quelle di Mercatelli (3), il quale cercò ottenere una vaccinazione degli animali contro la peste, facendo ingoiare per es. il vaccino Haffkine agli animali stessi.

Molto più interessanti per la quistione che ne interessa, sono le recentissime ricerche di Ganghofner e Langer (4) sul riassorbimento delle albumine attraverso il canale intestinale degli animali neonati e lattanti. Essi hanno osservato che nei cani giovani sino all'età di 6 giorni, si può introdurre nello stomaco albume di uovo o siero di sangue, e dimostrare col metodo delle precipitine, che questi materiali sono passati inalterati nel sangue. Un fatto analogo si osserva anche nei conigli e nei gatti fin verso il 10° giorno. Negli adulti (cani) se si introduce direttamente nell'intestino, sfuggendo così all'azione digestiva dello stomaco, del siero di bue, si trovano le sostanze introdotte nel sangue, e vi si possono riconoscere col metodo delle precipitine specifiche. Anche in un bambino di 3 settimane gli AA. poterono ricercare nel sangue l'albumina d'uovo somministrata prima per la via orale: e riscontrarono che essa era presente in scarsa quantità.

---

(1) Wakulenko A., riportato in *Centr. f. Bakter.*, 1ª Abteil., Referate, vol. 34, 1904.

(2) Schwarz, *Centr. f. Bakter.*, 1ª Abteil., vol. 32, Referate.

(3) Mercatelli, *Riforma medica*, 1902.

(4) Ganghofner e Langer, *Münch. med. Woch.*, n. 34, 1904.

Le mie ricerche erano già a buon punto, quando comparve anche il lavoro di A. Tchitchkine (1), il quale sebbene con diverso obbiettivo, tocca alcuni punti che sono oggetto delle ricerche che seguono.

Lo scopo delle ricerche di T. era specialmente quello di ottenere un tifo sperimentale e di osservare quali modificazioni apparivano nel sangue degli animali alimentati con germi. Operò su conigli adulti e su conigli lattanti (di quale età?) e constatò: che alimentando dei conigli adulti con germi tifosi uccisi o vivi, si ha la comparsa di agglutinine nel siero, mentre nei lattanti invece non si ha la comparsa di tali agglutinine!

Si noti che gli animali in esperimento ricevevano uguali quantità di materiale batterico, indipendentemente dal peso e dall'età.

Questo problema dell'immunizzazione attiva per la via gastrica nei neonati e nei lattanti, non si può risolvere senza tener conto di varii fatti. Uno dei più importanti è quello dell'età dell'animale, in rapporto alle singole specie.

Non è indifferente adoperare animali con 2 o con 20 giorni d'età; e non è identico operare su cani o su conigli, poichè lo sviluppo anatomico progressivo del canale gastro-intestinale, e la funzionalità di questo tubo, non si corrispondono nelle varie specie animali, in periodi identici di vita.

Per questo le ricerche che seguono sono state fatte e su cani e su conigli in diverso periodo di sviluppo; le ricerche si sono estese tanto alle immunizzazioni con globuli rossi (i quali si prestano assai meglio dei batteri per dare una idea netta della progressiva formazione di anticorpi) come a quelle con forme batteriche (tifo), valutando, però, l'immunizzazione solo in rapporto alla formazione di agglutinine.

Espongo anzitutto le ricerche che riguardano le immunizzazioni batteriche.

Di preferenza si adoperò come animale il cane, perchè l'impiego dei conigli giovani è assai difficile, pel fatto che male si riesce a introdurre, anche col latte, quantità discrete di germi.

(1) A. Tchitchkine, *Annales Pasteur*, 1904.

L'alimentazione di questi cuccioli era fatta o con latte materno o con latte di vacca. Nel secondo caso si stemperavano le patine colturali nel latte stesso, e si alimentavano i cagnolini col *biberon*, affinchè non andasse perduta nessuna parte del materiale batterico. Pei cani alimentati con latte materno, si faceva l'introduzione del materiale batterico, sospeso in poco latte, con un contagoccie.

Per le immunizzazioni fu esclusivamente adoperato il bacillo tifoso; si è sempre iniziato il trattamento con colture uccise al calore, e lo si è poi continuato adoperando colture vive. Le patine colturali impiegate erano sempre molto fresche (26-36 ore d'età). Per le prove di confronto sui cani adulti, parte di questi furono tenuti a esclusiva dieta lattea, parte a dieta mista (carne, pane e latte).

I cuccioli in generale non sopportavano molto bene l'introduzione del materiale batterico, anche procedendo con cautela: e molto spesso si aveva un rapido dimagramento ed un profondo marasma.

Anche per questo ho provato ad ottenere una immunizzazione attiva, usando invece delle patine batteriche, i prodotti di autolisi delle stesse, preparati col metodo di Shiga.

È poi inutile il dire ancora una volta l'importanza che può avere l'età dell'animale per la produzione di anticorpi; si è quindi tenuto il massimo conto di questo fattore.

Riporto qui senz'altro sommariamente i dati del protocollo, che permettono di rendersi un conto esatto del procedere dell'esperimento.

Cani lattanti.

Cane femmina (G.). — Peso gr. 1180, età 32 giorni; 7 novembre 1903, salasso di prova. Agglutina il mio tifo a 1 : 20.

L'8 novembre si inizia il trattamento. Per 5 giorni riceve $^1/_{10}$ di agar coltura uccisa, per Kg. di peso; indi per 5 giorni $^1/_5$, poi $^1/_2$. Si termina con somministrare $^1/_2$ coltura viva per Kg. di peso, al giorno. Le colture si dànno mescolate al latte. Il cane dimagra alquanto.

Il 7 dicembre, salasso. Agglutina 1 : 100.

Cane maschio (G.). — Peso gr. 1410, età 32 giorni; 7 dicembre, salasso. Agglutina 1 : 20. Si procede come pel cane più sopra indicato. Dimagra rapidamente. Il 9 dicembre, salasso. Agglutina 1 : 80.

Cane maschio (N.). — Peso gr. 970, età 32 giorni; 7 novembre, salasso. Agglutina 1 : 20. Trattamento come sopra. Si salassa in agonia per marasma il 2 dicembre. Agglutina 1 : 90.

Cane maschio (N. N.). — Peso gr. 1000, età 24 giorni. Siero prima del trattamento, agglutina 1 : 40. Il 4 novembre comincia il trattamento come sopra. Il 14 gennaio 1904, salasso. Agglutina 1 : 100. Riposa 4 giorni e riprende il trattamento. Il 22 si sacrifica. Agglutina 1 : 150.

Cane maschio (B.). — Peso gr. 850, età 25 giorni. Il 20 dicembre si inizia il trattamento; il 23 si sospende per 5 giorni, poi si riprende il trattamento. Agglutinamento il 9 gennaio 1904, 1 : 250.

Cane maschio (P.). — Peso gr. 1400, età 28 giorni. Il 7 gennaio 1904, presa di sangue di prova. Agglutina 1 : 40.

L'8 gennaio si inizia il trattamento; il 22 l'animale presenta grave diarrea; il 28 si salassa. Agglutina 1 : 50.

Cane femmina (P.). — Peso gr. 1300, età 28 giorni. Il 7 gennaio 1904, presa di piccola quantità di sangue. Agglutina 1 : 30. L'8 si inizia il trattamento; il 10 febbraio si salassa. Agglutina 1 : 100. Riposa 3 giorni e poi riprende la alimentazione coi germi; il 28 si sacrifica. Agglutina 1 : 150.

Cane maschio (N.). — Tre cuccioli con peso da 1000 a 1200 gr., età 32 giorni. Se ne salassa uno per prova il 12 febbraio 1904. Agglutina 1 : 30.

Indi si dànno prodotti autolitici preparati col metodo di Shiga, somministrando per 5 giorni cmc. 2 di tali prodotti, poi 4 cmc. per giorno. Il 24 febbraio si sacrifica uno degli animali. Agglutina 1 : 60. L'altro si salassa il 27 e agglutina 1 : 80; l'ultimo si sacrifica il 12 marzo e agglutina 1 : 80.

Cani neonati.

Più tardi sono state fatte alcune prove con cani neonati. La somministrazione del materiale batterico emulsionato nel latte è in tal caso più difficile, ma si riesce con un po' di pazienza a far ingoiare goccia a goccia l'emulsione batterica.

1ª Prova. — Il 12 dicembre 1904 una cagna dà alla luce 5 piccini. Se ne uccide uno per avere il siero come controllo. Agglutina 1 : 4 debolmente.

Si dà ai cuccioli dell'emulsione batterica subito dopo 10 ore dalla nascita, nei rapporti sopra indicati pei cani lattanti.

Dopo 4 giorni se ne sacrifica uno. Agglutina 1 : 2. Dopo 8 giorni dall'inizio del trattamento se ne sacrifica un altro. Agglutina 1 : 10. Dopo 15 giorni un terzo agglutina 1 : 20. L'ultimo si sacrifica dopo 24 giorni e agglutina 1 : 100.

2ª Prova. — Il 10 dicembre 1904 una cagna partorisce 4 cagnolini. Se ne sacrifica uno. Agglutina 1 : 1.

Si inizia 18 ore dopo la nascita il trattamento, fatto nel modo già ripetute volte accennato, per due cani.

Dopo 2 giorni se ne sacrifica uno. Agglutina 1 : 1.

Dopo 8 giorni se ne uccide un altro. Agglutina 1 : 6.

Il terzo cane inizia il trattamento al 3° giorno di vita. Dopo 4 giorni di trattamento lo sacrifico. Agglutina 1 : 15.

Cani adulti.

Cane maschio (N. F.). — Peso gr. 5250. Il siero agglutina all'1 : 20 prima del trattamento. Si pone a dieta di pane e latte; riceve patine collo stesso rapporto ponderale stabilito pei cagnolini.

Il 31 gennaio 1904, salasso. Agglutina 1 : 50; il 18 febbraio altro salasso. Agglutina 1 : 80.

Cane femmina (N.). — Peso gr. 7200. Agglutinazione di controllo prima del trattamento 1 : 10.

Il 21 gennaio 1904 inizio il trattamento; dieta mista. Il 20 febbraio salasso. Agglutina 1 : 100.

Cane femmina (G.). — Peso gr. 4800.

Il 20 gennaio 1904, salasso. Agglutina 1 : 10. Il 21 si inizia il trattamento; dieta mista. Il 14 marzo, salasso di prova. Agglutina 1 : 60.

Cane maschio (N. N.). Peso gr. 4000. Agglutinamento prima del trattamento 1 : 10.

Il 18 aprile riceve 5 cmc. di prodotti autolitici al giorno; dieta di latte. Agglutina 1 : 15.

Più innanzi tornerò sulle risultanze di queste prove. Poteva insorgere il dubbio che l'immunizzazione degli animali, fosse fatta troppo rapidamente; e che il deperimento ed il marasma grave che si aveva negli animali, contribuisse ad alterare la produzione delle agglutinine.

Per questo motivo, ad un piccolo cane ho somministrato delle patine colturali nel solito rapporto ponderale, ma non più tutti i giorni, bensì una volta ogni 4 giorni. Ecco il risultato:

Cane maschio (P.). — Peso gr. 1000, età 28 giorni.

L'8 gennaio 1904, presa di sangue di prova; agglutina 1 : 15. Il 9 si inizia il trattamento che continua sino al 16 aprile; si salassa. Agglutina 1 : 125.

*
* *

Esaminando tutti questi dati, scaturisce facile la conclusione.

Anzitutto, in tesi generale, l'immunizzazione dei cani contro il tifo, per quanto riguarda almeno la formazione di agglutinine, si fa mediocremente bene, quando si somministri il materiale batterico per la via orale. Nei cani lattanti, poi, la somministrazione quotidiana di materiale batterico, dà luogo per lo più ad un deperimento notevole, anche se si ha cura di usare una quantità molto scarsa di materiale

La formazione di agglutinine avviene in un modo molto costante. Nei cani neonati, e almeno per i primi tre o quattro giorni di vita, non pare che l'organismo possegga già la proprietà di reagire all'introduzione dei germi, fatta per via gastro-intestinale, con formazione di anticorpi agglutinanti. Successivamente questo potere si inizia, e si ha una produzione di agglutinine in discrete quantità. Nel cane adulto questo potere permane, sebbene paia alquanto diminuito. Forse una influenza su tal fatto può averla anche la dieta, benchè nelle poche prove, uno sbalzo notevole dei dati non sia stato osservato.

Contro alle esperienze si potrebbero muovere alcune obbiezioni. La 1ª è che non in tutti i casi, si è fatto per i singoli animali in esperimento la ricerca preventiva del potere agglutinante. Osservo, però, come anche in tali casi almeno per uno dei cuccioli nati nella medesima volta e dalla stessa madre, si è provato il potere agglutinante del siero, e secondo le ricerche di Staübli (1) tutti gli animali di uno stesso parto presentano un potere agglutinante uguale.

Una seconda obbiezione riguarda la quantità di patina batterica, somministrata ai vari animali. La via da me scelta di somministrare, cioè, quantità batteriche proporzionalmente al peso dei vari cani, risponde ai requisiti che una prova di tal genere vuole?

Certo nel fenomeno della formazione dell'agglutinina, somministrando patine batteriche per via orale, il coefficiente massimo del fenomeno reattivo, spetta allo sviluppo della superficie

(1) C. Staübli, *Centr. f. Bakter.*, I Abt., vol. 33.

intestinale assorbente, talchè sarebbe stato più logico stabilire i rapporti tra la superficie assorbente dei lattanti e degli adulti. Ma una infinità di fatti secondari veniva poi ad alterare i dati, per modo, che assai meglio mi parve ricorrere a questa misurazione facile e uniforme del rapporto ponderale; misurazione che ha poi valso anche per tutte le altre prove di immunizzazione attiva e passiva.

Riassumendo quindi, dalle prove fatte, nelle condizioni indicate, risulta che i cani neonati non posseggono la facoltà di formare agglutinine; solo dopo 4-5 giorni la formazione degli anticorpi agglutinanti si inizia in modo sensibile.

Nei lattanti, e nelle condizioni dell'esperimento, si ha una formazione di agglutinine in misura alquanto più elevata che negli adulti.

* * *

Prove analoghe e condotte con ugual metodo, furono fatte per l'immunizzazione di animali adulti e neonati, contro elementi cellulari. Servirono cani e conigli, e come elemento di immunizzazione si sono adoperati i globuli rossi della gallina. La somministrazione è stata fatta dando 1 cmc. di sangue defibrinato di gallina, per ogni 100 gr. di peso dell'animale. Per gli animali adulti ho adoperato una sonda gastrica adatta; pei piccoli, sono ricorso all'introduzione orale, fatta goccia a goccia. Più difficile è la cosa pei conigli neonati, che muoiono assai rapidamente, dopo l'introduzione orale di piccole quantità di sangue di gallina; e fui obbligato a ripetere molte volte il tentativo, prima di arrivare a salvare qualche animale trattato.

Del resto, pur di operare con qualche prudenza si riesce talora ad introdurre discrete quantità di globuli rossi anche nei conigli lattanti.

Espongo in riassunto i risultati ottenuti e sui neonati, e sui lattanti in varii periodi d'età, e sugli animali adulti di controllo. Per questi ultimi la dose di globuli rossi fu qualche volta ridotta, poichè con cani di 6-8 Kg. tornava difficile introdurre la adatta quantità di globuli, seguendo il rapporto di 1 cmc. di sangue per 100 gr. d'animale: e della cosa farò menzione a suo luogo.

Le prove d'emolisi furono fatte al solito modo, usando $^1/_2$-1-3-8-10-20 goccie (si intende che 1 goccia corrisponde approssimativamente $^1/_{20}$ di cmc.) del siero dell'animale immunizzato, ottenuto di recente. Non insisto sui dettagli: basti dire che si è tenuto calcolo di tutte le cause di errore evitabili. Le indicazioni dell'emolisi avvenuta, da me adoperate, non sono assolute: però ho avuto cura usando dei tubi testimonii, di mantenere una classifica che potesse dare almeno una idea relativa e comparativa dei risultati ottenuti.

Per questo, userò i termini di: traccia di emolisi, emolisi debolissima, molto debole, debole, scarsa, mediocre, discreta, buona e completa, per indicare i varii gradi dell'emolisi avvenuta. Una tale aggettivazione è lontana dall'esprimere valori assoluti, ma può ben servire per le comprensioni di relatività.

Non furono mai fatte prese di sangue, se non 4 giorni almeno dopo la somministrazione dei globuli rossi.

Ecco riassunti i dati di protocollo:

Prove sui conigli.

Neonati. — Ricevono sangue di gallina goccia a goccia, in ragione di 1 cmc. per 100 gr. d'animale. Si adoperano conigli con 8 ore d'età.

La prova dopo molti tentativi riesce bene per *3 animali*; 4 giorni dopo la somministrazione si decapitano e si raccoglie il sangue.

Emolisi negativa anche usando 20 goccie di siero per 1 cmc. di emulsione di globuli di gallina.

Si riesce a ripetere la prova su *2 animali*; 4 giorni dopo la somministrazione uno vien sacrificato. Emolisi negativa pure con 20 goccie di siero.

L'altro riceve 7 giorni dopo la prima, una seconda somministrazione di globuli; 5 giorni dopo (ha circa 13 giorni di vita) si uccide.

Emolisi: con $^1/_2$-1-3-5 goccie, negativa; con 10-20, traccia.

Lattanti. — *Piccolo coniglio di 8 giorni:* riceve una sol volta sangue di gallina. Quattro giorni dopo si sacrifica.

Emolisi negativa anche con 20 goccie.

Piccolo coniglio di 8 giorni: riceve per 2 volte a 7 giorni di distanza sangue di gallina. Si sacrifica.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, 0; 3-5, traccia; 10-20, debolissima.

Coniglio di 12 giorni: riceve 2 somministrazioni nel modo indicato per gli altri.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, traccia; 3-5, debolissima; 10-20, debole.

Coniglio di 12 giorni: riceve 3 consecutive somministrazioni nel solito modo.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, traccia; 5-10 debolissima; 10-20 debole.

Coniglio di 15 giorni: riceve una sola somministrazione.

Emolisi: $^1/_2$-1-3-5 goccie, 0; 10, traccia; 20, debolissima.

Coniglio di 18 giorni: riceve globuli una sol volta.

Emolisi: $^1/_2$-1-3, traccia; 5-10, debolissima; 20, debole.

Coniglio di 30 giorni: riceve globuli una sol volta.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, 0; 3, traccia; 5-10, debolissima; 20, debole.

Coniglio pure di 30 giorni: riceve globuli una sol volta.

Emolisi: $^1/_2$ goccia, 0; 1, traccia; 3-5, debolissima; 10, debole; 20, mediocre.

Altro coniglio pure di 30 giorni: riceve globuli 2 volte consecutive.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, traccia; 3-5 debolissima; 10, debole; 20, mediocre.

Adulti. — *Coniglio:* somministrazione di globuli per una sol volta.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, 0; 5-10-20, traccia.

Coniglio: somministrazione di globuli per 2 volte consecutive.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, traccia; 1-3, debolissima; 5-10-20 debole.

Prove sui cani.

Neonati. — A 3 cuccioli di poche ore di vita si somministra sangue di gallina colle solite norme. Dopo 4 giorni se ne sacrifica uno.

Emolisi: $^1/_2$-1-3-5 goccie, 0; 10-20, traccia.

L'altro riceve sangue di gallina una seconda volta; 4 giorni dopo si salassa.

Emolisi: $^1/_2$ goccia, 0; 1-3, traccia; 5-10, debolissima; 20, debole.

Lattanti. — *Cucciolo di 15 giorni:* riceve una sol volta i globuli rossi. Si sacrifica dopo 4 giorni.

Emolisi: $^1/_2$-1-3 goccie, 0; 5-10, traccia; 20, debolissima.

Cucciolo di 15 giorni: riceve i globuli per 2 volte di seguito.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, traccia; 3, debolissima; 5-10, debole; 20, scarsa.

Cucciolo di 20 giorni: 3 somministrazioni.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, traccia; 3, debole; 5-10, mediocre; 20, buona.

Cucciolo di un mese: riceve sangue due volte.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, traccia; 3-5, debolissima; 10-20 mediocre.

Cucciolo di un mese: riceve sangue tre volte.

Emolisi: $^1/_2$-1 goccia, debole; 3-5, mediocre; 10-20 buona.

Cane adulto: riceve sangue negli stessi rapporti ponderali; le somministrazioni si fanno per 3 volte, e 4 giorni dopo ciascuna volta, si fa un salasso, saggiando il potere emolitico del siero.

Emolisi dopo la 1ª somministrazione: $^1/_2$-1-3 goccie, 0; 5-10, traccia; dopo la 2ª: $^1/_2$-1-3, traccia; 5, debolissima; 10, debole; 15, mediocre; dopo la 3ª: $^1/_2$-1-3, traccia; 5-10, debole, 20, discreta.

Cane adulto: riceve analogamente 3 somministrazioni (globuli con $^1/_2$ dose di quella corrispondente al rapporto ponderale abituale).

Emolisi dopo la 1ª volta: $^1/_2$-1-3-5 goccie, 0; 10-20, traccia; dopo la 2ª: $^1/_2$-1-3, traccia; 5-10, debolissima; 20, debole; dopo la 3ª: $^1/_2$-1, debolissima; 3-5, debole; 10, buona; 20, quasi completa.

Anche per gli anticorpi (ambocettori) emolitici, si può quindi affermare che tanto pei cani, come pei conigli, nei primissimi giorni di vita, non si ha la formazione di tali anticorpi specifici. Il potere di produrre tali anticorpi, pare si inizii verso il 4°-5° giorno, e forse più presto nei cani di quanto non avvenga nei giovani conigli. In seguito, il potere aumenta, talchè verso il 15°-20° giorno, non è rilevabile una differenza grande, in rapporto a quanto si verifica per gli animali adulti. Per ultimo, non si riesce a rilevare tra gli animali lattanti, in tutto il tempo dell'allattamento, uno speciale periodo durante il quale il potere di produrre anticorpi sia aumentato: e se qualche differenza esiste, questa è trascurabile, dati i metodi di esame abituali.

Alla osservazione che i neonati non producono anticorpi emolitici, poteva muoversi una obbiezione. E cioè il risultato negativo della prova poteva forse dipendere solo dalla mancanza di complemento nei tubi da reazione: ciò perchè è noto per le osservazioni di Sachs (1), come nei feti anche a termine, e quindi verosimilmente nei neonati, il complemento è venti volte meno abbondante che non negli adulti.

Per togliere ogni dubbio in proposito, ho proceduto ad una prova di controllo, aggiungendo in tutti i tubi, nei saggi emolitici fatti con siero di cani e conigli neonati, qualche goccia di siero fresco normale di coniglio. Ma il risultato fu identico, e l'obbiezione quindi non appare sostenibile.

---

(1) H. Sachs, *Centr. f. Bakter.*, I Abt., vol. 34.

Le immunizzazioni passive dei lattanti e dei neonati per la via gastrica.

Le immunizzazioni passive per via gastrica sono state praticate altra volta (indipendentemente, in genere, dai rapporti di età), specialmente a proposito delle immunizzazioni antitossiche. Perini, Zagari e Calabrese, Coggi, Paltschikowsky, Nicolas e Arloing, e varii altri hanno tentato in addietro (e ancor di recente Onorato), la somministrazione gastrica di siero antidifterico, allo scopo di immunizzare dei bambini o degli animali. Il risultato in totale non fu molto incoraggiante, e fu così lontano dall'essere paragonabile con quello che dà la introduzione sottocutanea, che assolutamente il metodo non ebbe più seguito.

Prove di questo genere furono ripetute assai recentemente da F. Figari (1), con l'antitossina tubercolare Maragliano: e tanto negli animali quanto nell'uomo, i risultati furono più che discreti. Maragliano (2), pure, dice che le antitossine tubercolari introdotte per la via digerente, sono assorbite ed utilizzate nella protezione dell'organismo.

Del resto è indubbio che anche altre sostanze immunizzanti possono passare per la via gastro-enterica e pervenire così ad essere utilizzate dall'organismo.

Basterebbero a persuadercene le osservazioni di B. Salze (3), il quale vide che l'allattamento di madri immunizzate per la difterite, conferiva una immunità anche ai lattanti, l'osservazione già ricordata di Ganghofner e Langer (4) intorno all'introduzione di albumina d'uovo nello stomaco di un bambino di 3 settimane, e quella di Neumann (5), secondo il quale i lattanti di madri guarite di tosse ferina, vengono colpiti in scarsissimo numero dall'infezione.

Prove sperimentali dirette a vedere se nei neonati e nei lattanti il passaggio delle sostanze immunizzanti si faccia in alto

(1) F. Figari, *Berlin klin. Woch.*, 1903-1904. — *Annali dell'Istituto Maragliano*, 1904.

(2) E. Maragliano, *Clinica medica italiana*, vol. 12, 1903.

(3) B. Salze, *Jahr. f. Kinderh.*, vol. 60, fasc. 1.

(4) V. l. c.

(5) H. Neumann, *Deut. med. Woch.*, 1895.

grado, non esistono per quanto io sappia, sebbene alcuni dati in proposito, possono trovarsi nei lavori di Figari (1) riguardo allo assorbimento delle agglutinine e antitossine tubercolari: e se è ovvio pensare, conoscendo la chimica della digestione nel neonato e nel lattante, che le molecole proteiche alle quali sono legate le sostanze immunizzanti, possano assai più facilmente passare inalterate attraverso l'apparato digerente del lattante che non dell'adulto, non è men vero che noi non abbiamo delle prove dirette del fenomeno.

Le mie ricerche in questo campo sono state fatte su cani e conigli. Mi sono procurato animali di diversa età, dai neonati di poche ore a degli animali lattanti di un mese. D'altro lato ho tenuto pronte volta a volta le quantità necessarie di siero di coniglio e di cane, immunizzati contro un tifo di laboratorio, bene agglutinogeno ed agglutinabile: e di questo siero, conservato in condizioni adatte, si è determinato sempre il potere agglutinante sullo stesso ceppo di bacillo tifoso.

Ai diversi animali, neonati, lattanti e adulti, si è somministrato in quantità varia, una o più volte, del siero agglutinante a titolo noto, per via orale: e ciò si è fatto usando la sonda per gli animali adulti, e servendosi di pipette per gli animali lattanti. Gli animali dopo un certo periodo di tempo venivano sacrificati, e si determinava il potere agglutinante rispetto allo stesso ceppo colturale di tifo.

Non per tutti gli animali si potè fare una prova di agglutinazione prima di iniziare il trattamento. Però per uno stesso gruppo di animali della stessa madre e di ugual periodo di nascita, si è fatto almeno per uno di essi la prova.

Siccome i sieri impiegati per il trattamento non erano sempre di ugual potere agglutinante, tornava meno semplice stabilire rapporti comparabili per indicare le quantità di agglutinina somministrata. Tanto per facilitare la comprensione, ho usato come unità di misura (unità di agglutinina) la quantità di agglutinina contenuta in 1 cmc. di siero capace di agglutinare il mio tifo all'1 : 1.

Quindi un siero che con 1 cmc. agglutina all'1 : 1000 possiede 1000 *U. Ag.* in 1 cmc.; e le somministrazioni di siero aggluti-

(1) Figari, *Annali dell'Istit. Maragliano*, 1904.

nante saranno senz'altro espresse in *U. Ag.*, senza tener conto del volume. Cioè: dicendo che un animale ha ricevuto 1000 *U. Ag.* vorrà dire indifferentemente che ha ricevuto 1 cmc. di siero agglutinante all'1 : 1000, o 2 cmc. di un siero agglutinante all'1 : 500.

Ecco senz'altro riassunti in poche parole i dati del protocollo di laboratorio.

Immunizzazioni passive nel cane.

Neonati. — Un cane neonato di 8 ore d'età, peso gr. 160, riceve 1 cmc. di siero con 4000 *U. Ag.;* 6 giorni dopo si salassa. Potere agglutinante 1 : 20.

Un altro cane dello stesso peso, riceve 2 volte (8 ore dopo e 6 giorni dopo la nascita) in totale 8000 *U. Ag.* Potere agglutinante 12 giorni dopo la nascita 1 : 30.

Un terzo cane, peso gr. 180, riceve per 3 volte (dopo 8 ore, 6-12 giorni dalla nascita) un totale di 4000 *U. Ag.* Salasso al 18° giorno. Agglutinazione 1 : 25.

Prima della ricerca un cane dello stesso peso agglutinava all'1 : 2.

Con altri 3 cani neonati si ripete la prova. Si uccide prima un 4° cane della prova: agglutinazione negativa.

Dei 3 cani uno si alimenta una sol volta, l'altro 2, il terzo 3 volte, rispettivamente con 2000, 4000, 6000 *U. Ag.*

Le prove di agglutinazione dànno rispettivamente i valori 1 : 30, 1 : 30, 1 : 40.

Lattanti. — *Cagnolino di 12 giorni:* peso gr. 500; riceve in 10 giorni 14.000 *U. Ag.* Agglutinazione del siero 1 : 10.

Cagnolino di 20 giorni: peso gr. 750; riceve in 15 giorni 22.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 30.

Cagnolino di 20 giorni: peso gr. 700, riceve in 25 giorni 38.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 40.

Cagnolino di 25 giorni: peso gr. 900, riceve in 16 giorni 10.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 20.

Cagnolino di 25 giorni: peso gr. 600; in 10 giorni riceve 10.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 8.

Cane di 40 giorni: peso 1000; riceve in 8 giorni 18.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 10.

Cane adulto: peso gr. 4200; agglutinazione prima della prova 1 : 8. Riceve in 12 giorni 30.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 10.

Cane adulto: peso gr. 3600; agglutinazione prima della prova 1 : 10. Riceve in 20 giorni 100.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 40.

Il siero adoperato nelle immunizzazioni, provenne sempre da cani immunizzati previamente.

Immunizzazioni passive nel coniglio.

Per le immunizzazioni passive del coniglio, fu adoperato sempre siero di coniglio previamente immunizzato; le valutazioni furon fatte nel modo già indicato.

Neonati. — Tre conigli di poche ore ricevono 2000 *U. Ag.* Si salassano in 4ª giornata. Agglutinazione, rispettivamente 1 : 40; 1 : 30; 1 : 40.

Un coniglio neonato riceve a partire dalla 12ª ora di vita fino al 10° giorno 6000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 80.

Lattanti. — *Coniglio di 10 giorni:* riceve 20.000 *U. Ag.* in 6 giorni. Agglutinazione 1 : 10.

Coniglio di 10 giorni: peso gr. 130; riceve una sol volta 10.000 *U. Ag.* Agglutina 1 : 10. L'agglutinazione prima della prova, fatta su altro coniglio dello stesso parto, dava 1 : 2.

Coniglio di 10 giorni: peso gr. 130; riceve in 20 giorni 80.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 30.

Coniglio di 10 giorni: peso gr. 150; riceve una sol volta 12.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 10.

Coniglio di 12 giorni: peso gr. 170; riceve in 18 giorni (3 inoc.) 90.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 10.

Coniglio di un mese: peso gr. 270; riceve 30.000 *U. Ag.* in 12 giorni. Agglutinazione 1 : 20.

Coniglio di un mese: peso gr. 210; riceve 15.000 *U. Ag.* in 6 giorni. Agglutinazione 1 : 10.

Coniglio di 18 giorni: peso gr. 180; riceve 8000 *U. Ag.* in 2 volte (10 giorni). Agglutinazione 1 : 20.

Adulti. — *Coniglio adulto:* peso gr. 1500; riceve una volta 30.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 20. Riceve altre 40.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 40.

Altro coniglio adulto: peso gr. 1800; riceve in 3 volte (18 giorni) 100.000 *U. Ag.* Agglutinazione 1 : 30. Riceve altre 50.000 *U. Ag.* in una 4ª volta. Agglutinazione 1 : 40.

Ove non è indicato specificatamente, è inteso che le prese di sangue per la prova agglutinante, sono sempre fatte 4-5 giorni dopo l'ultima somministrazione di siero agglutinante.

***

L'esame dei dati permette senz'altro di trarre alcune conseguenze. Anche se i dati non sono (sovratutto a cagione dei pesi diversi e delle quantità diverse di *U. Ag.* introdotte) tutti tra loro comparabili nel modo migliore, essi però offrono nei risultati una concordanza tale che rende le risultanze stesse assolutamente attendibili. *In tutti gli animali sperimentati l'immunizzazione passiva per via gastrica riesce male: occorrono talora enormi quantità di* U. Ag. *per avere nel sangue dell'animale, uno scarsissimo potere agglutinante.*

Le variazioni individuali hanno poi un valore notevole nel risultato del processo immunizzante passivo: taluni animali presentano con un numero relativamente basso di U. Ag. *introdotte, un siero più fortemente agglutinante, di quello di altri animali, che hanno introdotto grandi quantità di agglutinina.*

Nelle varie età l'immunizzazione passiva per via gastrica si fa generalmente male: però nei neonati (la cosa appare meglio evidente nei cani) si ha un più facile assorbimento di agglutinine. Nell'epoca dell'allattamento, e dopo i primi giorni di vita, questo assorbimento non pare più si faccia altrettanto bene. Certo in questi lattanti, tenuto conto di tutte le condizioni di esperimento, il risultato pratico (per quanto almeno riguarda il passaggio dell'agglutinina in circolo) non è sensibilmente più elevato che negli animali adulti.

In conclusione adunque, solo nei primi giorni di vita, si ha un più facile assorbimento di agglutinine, per opera del canale gastro-intestinale. Dato importante per varia ragione, e che richiama alla mente le osservazioni di Escherich (1) a proposito delle somministrazioni di siero antidifterico per via gastrica; poichè secondo Escherich solo nei lattanti, e specialmente in quelli molto giovani, l'antitossina somministrata per via gastrica viene a trovarsi in circolo. Il dato per contro non è interamente concordante con quanto Figari avrebbe osservato per le agglutinine tubercolari; poichè secondo questo autore anche gli animali adulti possono assorbire e utilizzare i materiali specifici antitubercolari, contenuti nel latte immunizzato.

(1) Escherich, *Wiener klin. Woch.*, 1897.

*
* *

A tutte le prove sperimentali riportate e specialmente a quelle riguardanti l'immunizzazione passiva, può muoversi una obbiezione fondamentale.

E cioè, le agglutinine da noi somministrate col siero, si trovano legate a talune porzioni proteiche del siero, e verosimilmente alle frazioni globuliniche. Ora è possibile che nei neonati e nei lattanti, forse anche negli adulti, le condizioni di assorbibilità di tali frazioni proteiche, non possano paragonarsi a quelle che si hanno nei casi pratici di immunizzazione passiva con latte di animali immunizzati; nel qual caso le sostanze immunizzanti (verosimilmente quindi anche l'agglutinina), si trovano legate a frazioni proteiche del latte, ben altrimenti assorbibili di quelle del siero di sangue.

Certamente la prova, quale è stata condotta, poteva almeno dire se l'assorbimento dei materiali proteici ai quali l'agglutinina è legata, si faceva in diverso modo nelle varie età: ma i dati pratici in rapporto alla immunizzazione dei lattanti, come avviene nel caso di madri immunizzate che dànno latte ai piccoli, non potevano ritenersi attendibili.

Ora che per il latte vengano emesse in quantità sostanze immunizzanti ed anche agglutinine, è noto da tempo. Schmid e Pflasy (1) hanno da quasi un decennio dimostrato che col latte di madre immunizzate si allontanano delle antitossine difteriche; Ehrlich e Wassermann (2), pure, trovarono che pel latte si eliminano dell'antitossine. Analogamente Salomonsen e Madsen (3) constatarono che pel latte si secerne, negli animali immunizzati, della antitossina difterica, la quantità della quale, cresce ad ogni inoculazione. Più tardi Kraus (4), Achard (5), Schumacher (6), e poi Daddi (7) e qualche altro, han dimostrato come le agglu-

(1) Schmid e Pflasy, *Wiener klin. Woch.*, 1896.
(2) Ehrlich e Wassermann, *Zeit. f. Hygiene*, vol. 18.
(3) Salomonsen e Madsen, *Annales Pasteur*, vol. VII.
(4) Kraus, *Centr. f. Bakter.*, vol. 21, I Abt.
(5) Achard, *Sem. méd.*, 1896.
(6) H. Schumacher, *Zeit. f. Hygiene*, vol. 37.
(7) Daddi, *Rivista di clinica medica*, 1904.

tinine tifose si trovino nel latte di donne che han sofferto di tifo, o di animali trattati con bacilli tifosi. Anche Roemer (1) ha più di recente osservato che l'antitossina può trovarsi nel latte delle femmine immunizzate, e può per tal modo arrivare ai lattanti.

Secondo questo autore, poi, l'assorbimento delle antitossine si fa solo nei primi giorni di vita, indi non avviene più: non tanto perchè l'antitossina vada distrutta nello stomaco, quanto per il difficoltato assorbimento di essa.

Nel corso delle mie ricerche già riferite, ho avuto occasione di verificare non solo molte volte il passaggio delle agglutinine nel latte, ma ho anche eseguite alcune prove che mi paiono interessanti per la quistione dell'assorbimento, da parte dei lattanti, delle sostanze immunizzanti, contenute nel latte materno, e più specialmente delle agglutinine.

In varii periodi ho tenuto in esame cagne e coniglie, coperte presso a poco nello stesso tempo. Per lo più si tenevano lotti di 3-4 cagne e di 4-6 coniglie contemporaneamente.

Parte di questi animali si immunizzavano prudentemente con tifo. Solo le coniglie sopportano male il trattamento e abortiscono con facilità: nelle cagne, invece, l'immunizzazione non dà conseguenze spiacevoli.

Allorquando gli animali partorivano, si saggiava il potere agglutinante del siero e del latte delle madri immunizzate, e del siero dei piccoli nati da esse. Indi parte dei piccoli si lasciavano alla madre, parte si ponevano sotto ad altra madre non immunizzata, parte si allevavano con nutrizione a *biberon:* e al seno della madre immunizzata, si poneva anche qualche piccolo nato da altra madre non immunizzata.

Pei conigli la prova non riuscì mai completamente: per lo più le madri si rifiutavano di allattare i piccoli di altra femmina, ed uccidevano anche tutti i neonati. Invece coi cani la prova riuscì assai bene tre volte.

Nei conigli però fu almeno possibile vedere come aumenti nei piccini il potere agglutinante, mediante alimentazione al seno, di madri immunizzate.

---

(1) Roemer, *Berlin. klin. Woch.*, 1901.

Per quanto riguarda anzitutto il fatto già noto del passaggio dell'agglutinina nel latte, i saggi che ho avuto occasione di eseguire dicono solo che nel latte le agglutinine si trovano in mediocre quantità, in confronto alle agglutinine del siero.

Così in un caso il siero agglutinava all'1 : 800, il latte all'1 : 50.

In un altro caso il siero agglutinava all'1 : 2000, il latte all'1 : 100.

Il valore massimo agglutinante del latte, riscontrato iu una cagna con siero agglutinante all'1 : 4000 fu di 1 : 200.

Circa alle altre prove ecco i dati riassuntivi:

Una coniglia (novembre 1904) gravida è immunizzata con tifo. Al momento del parto il suo siero agglutina 1 : 400. Di 6 nati se ne uccide uno subito; agglutinazione 1 : 40. Il latte della madre agglutina 1 : 30. Dopo 8 giorni di allattamento si uccide un piccolo: agglutina 1 : 70. Dopo 14 giorni si uccide un altro piccolo; agglutinazione 1 : 80.

Dopo un mese se ne uccide un terzo: agglutinazione 1 : 40. Nel frattempo la madre fu inoculata 2 volte con $^1/_2$ agar-coltura.

Questa prova riuscì con un altro coniglio, e con risultato analogo.

Una cagna (agosto 1904) riceve durante la gravidanza 3 inoculazioni di bacillo tifoso.

Al parto il siero di uno dei nati agglutina 1:20. Parte dei piccoli sono allattati dalla madre, parte artificialmente, ed uno è posto al seno di altra cagna non immunizzata.

Dopo 18 giorni uno dei cani allattati dalla madre è sacrificato. Agglutina 1 : 80 (la madre nel frattempo riceve due inoculazioni di tifo). Il latte agglutina all'1: 100. Un altro è ucciso dopo 30 giorni; agglutinazione 1:60.

Uno dei cani allattati artificialmente è ucciso dopo 15 giorni. Agglutinazione 1 : 20.

Il cagnolino allevato da cagna non immunizzata, dopo 15 giorni agglutina 1 : 15.

Un'altra cagna (agosto 1904) è immunizzata durante la gravidanza con 4 inoculazioni. Dei piccoli parte si lasciano alla madre, due si allevano al *biberon.*

Alla nascita si uccide un cagnolino: agglutina 1 : 40. Il siero della madre agglutina 1 : 800, il latte 1 : 90.

Dopo 12 giorni un cagnolino allevato dalla madre è ucciso. Agglutinazione 1 : 60. Dopo un mese se ne uccide un altro; agglutinazione 1 : 50.

Uno dei cani allevati al *biberon* si uccide dopo 10 giorni. Agglutinazione 1 : 20. L'altro si sacrifica dopo un mese. Agglutinazione 1 : 10.

Il 15 dicembre 1904 si organizza la prova con *tre cagne,* coperte precedentemente a distanza di poche ore l'una dall'altra. Di queste cagne che chiamerò *a, b, c*; *a* e *b* si immunizzano col tifo; *c* si tiene tale quale.

Le cagne partoriscono a distanza di 2-3 giorni l'una dalle altre; ultima a partorire è la cagna *c*.

I piccoli (salvo uno per parto che si sacrifica) si scambiano in tal modo: parte dei nati di *a* si pongono al seno di *c*, parte di *b* pure al seno di *c*, e di quelli di *c* due si pongono ad *a* e uno a *b*.

Le prove agglutinanti dànno questo risultato:

Cagna a: Al momento del parto il siero agglutina 1 : 2000. Latte 1 : 80. Siero di un neonato 1 : 40.

Cagna b: Al momento del parto il siero agglutina 1 : 800. Latte 1 : 60. Siero di un neonato 1 : 10.

Cagna c: Latte agglutina 0. Siero di un neonato agglutina 1 : 1.

Dopo 10 giorni:

Un cagnolino di *a* allattato da *a* agglutina 1 : 80 (la madre fu inoculata ancor una volta).

Un cagnolino di *a* allattato da *c* agglutina 1 : 20.

Un cagnolino di *c* allattato da *a* agglutina 1 : 20.

Un cagnolino di *b* allattato da *b* agglutina 1 : 20.

Un cagnolino di *b* allattato da *c* agglutina 1 : 4.

Un cagnolino di *c* allattato da *b* agglutina 1 : 10.

Dopo 20 giorni:

Un cagnolino di *a* allattato da *a* agglutina 1 : 80.

Un cagnolino di *a* allattato da *c* agglutina 1 : 2.

Un cagnolino di *c* allattato da *a* agglutina 1 : 40.

Un cagnolino di *b* allattato da *b* agglutina 1 : 10.

Un cagnolino di *b* allattato da *c* agglutina 1 : 4.

(*a* e *b* avevano ricevuto un'altra iniezione colturale nel frattempo).

Non ho potuto ripetere, in condizioni opportune, per le gravi difficoltà materiali e sebbene abbia tentato di tenere anche numerose cagne gravide, questa prova, che è di importanza capitale per la quistione della immunizzazione dei neonati e dei lattanti.

Ma le risultanze ottenute sono tali da non lasciare dubbio sulle conclusioni che si possono trarre.

I lattanti allattati con latte spontaneamente ricco di agglutinine assorbono facilmente queste agglutinine e le dimostrano nel sangue. L'immunizzazione passiva praticata in queste condizioni è più efficace di quella ottenuta somministrando ai lattanti per via orale del siero agglutinante, anche proveniente dalla stessa varietà animale. (Manca per un giudizio assoluto la

nozione della quantità di latte che viene succhiato da un piccolo nelle 24 ore: e senza questo dato un confronto esatto cogli animali nei quali si somministrava del siero agglutinante, non è possibile. Però la quantità di *U. Ag.* nel latte è così bassa, che pur mancando la nozione sul valore delle totali *U. Ag.* introdotte, si può ritenere che questo valore non raggiunga le varie decine di migliaia di *U. Ag.* che si introducevano nei cani delle prove antecedenti per mezzo del siero). *Quindi è logico supporre che nel latte le agglutinine si trovino in speciale legame con determinate sostanze proteiche che ne facilitano l'assorbimento: a meno, però, che somministrando siero, l'assorbimento si faccia meno bene per la presenza di sostanze ostacolanti la utilizzazione delle agglutinine stesse. Il che non è risolto da queste prove.*

L'assorbimento delle agglutinine del latte si fa meglio nei primi 10-12 giorni di vita: poi il potere di utilizzazione scema gradualmente: almeno pei cani.

Conclusione.

Esposte le risultanze delle esperienze da me eseguite, è logico chiedersi che cosa esse dicono in rapporto all'idea sostenuta da v. Behring, circa ad una possibile immunizzazione dei neonati e dei lattanti, mediante latte di mucche immunizzate contro la tubercolosi.

Mi guarderò dal trarre delle conclusioni generali e assolute, in un campo così vasto e in un argomento così delicato. Troppe obbiezioni si potrebbero muovere a delle conclusioni generali, dedotte da esperienze condotte su degli animali, in condizioni necessariamente artificiali.

Non solo il criterio del passaggio e dell'assorbimento delle agglutinine è un indice relativo e incerto per giudicare di una reale immunizzazione, ma ancor più è impossibile paragonare le condizioni di vita e di funzionalità dei cani e dei conigli con quelle dell'uomo. Pochi giorni di vita del cane corrispondono a settimane e a mesi della vita umana: e le deduzioni quindi andrebbero intese con molto criterio.

Queste prove dicono però, che in animali, quali i conigli ed i cani, le immunizzazioni attive verso i batteri e verso le emazie, si fanno male nei primi giorni di vita, per la impossibilità a formar anticorpi; mentre in seguito la somministrazione orale di emazie e di batteri determina una scarsa immunità attiva, non diversa in grado molto sensibile nei lattanti e negli adulti.

Per quando riguarda le immunizzazioni passive per via orale, è fuor di dubbio che il passaggio di talune sostanze immunizzanti almeno, si fa assai meglio nei neonati, che non negli adulti. Le condizioni speciali della funzione gastrica, la struttura stessa della mucosa gastrica ed intestinale, devono far sì che nei neonati l'assorbimento dei materiali si faccia assai bene.

E questo assorbimento e questa utilizzazione, si fa poi ancor meglio quando i materiali immunizzanti si trovano spontaneamente nel latte: in tal caso per le due prime settimane di vita, all'incirca, si osserva un notevole passaggio di materiale immunizzante (nel caso nostro di agglutinine) dalla madre al lattante (cane e coniglio).

Sotto questo rapporto, quindi, le prove sperimentali lasciano credere che la pratica dell'immunizzazione passiva per mezzo di latte proveniente da animali immunizzati attivamente, e somministrato agli individui nei primi tempi della vita, offra qualche probabilità di successo pratico.